

บทความวิจัย (Research Article)

ผลของยีสต์ *Torulaspora delbrueckii* และ *Metschnikowia pulcherrima* ต่อกิจกรรมการหมักและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซเดอร์ลิ้นจี่ (พันธุ์ฮวงฮวย) ชนิดมีแก๊สเนวิชญานี้ วุฒินิธิธานันท์¹ และ จักรพันธุ์ รอดทรัพย์^{2*}

Effect of *Torulaspora delbrueckii* and *Metschnikowia pulcherrima* on Fermentation Activities and Sensory Properties of Sparkling Lychee (*Litchi chinensis* Sonn. var. Hong Huay) Cider

Newitchaya Wutthinithisanand¹ and Jakapan Rodsup^{2*}

¹ Division of Food Science and Technology, School of Agriculture and Natural Resources, University of Phayao, Phayao, 56000

² Department of Food Science and Technology, Faculty of Science and Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Lanna, Phitsanulok, 65000

* Correspondence author : krodsup@rmutl.ac.th

Health Science, Science and Technology Reviews. 2023;16(3):3-13.

Received: 16 October 2022; Revised: 27 February 2023; Accepted: 9 August 2023

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้นำลิ้นจี่ผลร่วงซึ่งมีราคาจำหน่ายต่ำและมีอายุการเก็บรักษาสั้น มาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไซเดอร์ลิ้นจี่ชนิดมีแก๊ส โดยหมักน้ำลิ้นจี่ด้วยยีสต์ non-*Saccharomyces* 2 สายพันธุ์ (*Torulaspora delbrueckii*; TD และ *Metschnikowia pulcherrima*; MP) ในขวดแก้วที่ปิดสนิท บ่มที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 3 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 96 ชั่วโมง ตรวจสอบกิจกรรมการหมักของยีสต์ ทุก 24 ชั่วโมง ผลการวิจัยพบว่ายีสต์ TD เริ่มกิจกรรมการหมักไซเดอร์ลิ้นจี่ก่อนยีสต์ MP แต่มีอัตราการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำกว่ายีสต์ MP ไซเดอร์ลิ้นจี่ชนิดมีแก๊สที่ผลิตด้วยยีสต์ TD มีคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสในด้านความเข้มข้นของกลิ่นผลไม้เขตร้อน ความชอบในด้านกลิ่น กลิ่นรส และความชอบโดยรวม สูงกว่าไซเดอร์ลิ้นจี่ชนิดมีแก๊สที่หมักด้วยยีสต์ MP

คำสำคัญ: ไซเดอร์ลิ้นจี่ชนิดมีแก๊ส, *Torulaspora delbrueckii*, *Metschnikowia pulcherrima*, กิจกรรมการหมัก, คุณภาพทางประสาทสัมผัส

¹ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา 56000

² สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา พิษณุโลก จังหวัดพิษณุโลก 65000

Abstract

This research used the low selling price and short shelf-life of lychee fruit drop as raw materials for sparkling lychee cider production. Lychee juices were fermented with two strains of non-*Saccharomyces* yeasts (*Torulaspora delbrueckii*; TD and *Metschnikowia pulcherrima*; MP) in hermetically sealed glass bottles and incubated at ambient temperature (30 ± 3 °C) for 96 h. Fermentation activities were monitored every 24 h. It was found that TD yeast started fermenting faster than MP yeast, with lower conversion rate of sugar to alcohol and carbon dioxide. Sparkling lychee cider fermented with TD yeast had higher sensory scores of tropical fruit aroma intensity, aroma, -flavor, and -overall liking than that of sparkling lychee cider fermented with MP yeast.

Keywords: Sparkling lychee cider, *Torulaspora delbrueckii*, *Metschnikowia pulcherrima*, Fermentation activity, Sensory property

คำนำ

ลิ้นจี่ (*Litchi chinensis* Sonn.) เป็นผลไม้เศรษฐกิจของภาคเหนือ ในปี 2564 ประเทศไทยมีปริมาณผลผลิตลิ้นจี่ทั้งหมด 36,233 ตัน โดยมีปริมาณผลผลิตในเขตภาคเหนือ 31,570 ตัน คิดเป็นร้อยละ 87.1 ของผลผลิตลิ้นจี่ทั้งประเทศ และจังหวัดพะเยาเป็นแหล่งผลิตลิ้นจี่เป็นอันดับ 2 ของภาคเหนือ รองจากจังหวัดเชียงใหม่ โดยมีปริมาณผลผลิต 4,055 ตัน คิดเป็นร้อยละ 12.8 ของผลผลิตลิ้นจี่ในเขตภาคเหนือ [1] ส่วนใหญ่ปลูกในเขตอำเภอแม่ใจ คิดเป็นร้อยละ 80 และมีการปลูกพันธุ์ฮงฮวย คิดเป็นร้อยละ 90 ฮงฮวยเป็นพันธุ์ที่มีความหอม รสชาติหวานอมเปรี้ยว และมีเนื้อแห้ง ซึ่งเป็นลักษณะทางกายภาพที่แตกต่างจากแหล่งผลิตอื่น ทำให้ในปี 2562 “ลิ้นจี่แม่ใจพะเยา” ได้รับการขึ้นทะเบียนเป็นสินค้าสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ (geographical indication; GI) [2] ลิ้นจี่เป็นผลไม้ที่อุดมไปด้วยวิตามินเกลือแร่ เส้นใยอาหาร กรดอะมิโน อีกทั้งยังมีสรรพคุณทางยา เช่น เป็นยาบำรุง แก้อาการไอเรื้อรัง แก้อาการคั่งคุด และบรรเทาอาการผดผื่นของระบบทางเดินอาหาร [3] ลิ้นจี่ที่ได้มาตรฐานจะมีราคาจำหน่ายสูง ในขณะที่ลิ้นจี่ผลร่วง (คิดเป็นร้อยละ 20 ของผลผลิตทั้งหมดในพื้นที่จังหวัดพะเยา) มีราคาจำหน่ายต่ำ คือ 5-10 บาทต่อกิโลกรัม ลิ้นจี่เป็นผลไม้ที่เน่าเสียได้ง่าย และมีอายุการวางจำหน่ายสั้น ทำให้เป็นอุปสรรคสำคัญต่อการขนส่ง ดังนั้นการนำลิ้นจี่ผลร่วงมาใช้เป็นวัตถุดิบในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ประเภทเครื่องดื่ม จึงเป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าให้กับลิ้นจี่ ซึ่งส่วนใหญ่ น้ำลิ้นจี่ที่จำหน่ายในท้องตลาด ได้แก่ น้ำลิ้นจี่พร้อมดื่ม น้ำลิ้นจี่เข้มข้น และน้ำแต่งกลิ่นลิ้นจี่อัดแก๊ส

ไซเดอร์ (cider) เป็นเครื่องดื่มที่ได้จากการหมักน้ำแอปเปิลหรือน้ำผลไม้ชนิดอื่น โดยมีรสชาติและปริมาณแอลกอฮอล์ที่แตกต่างกัน (ร้อยละ 0.5-8.5 โดยปริมาตร) ซึ่งขึ้นอยู่กับกระบวนการหมัก [4-6] ไซเดอร์ประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยป้องกันการเกิดโรคต่าง ๆ [7-9] ในปี 2559 มูลค่าตลาดโลกของไซเดอร์ทั้งที่ผลิตจากแอปเปิลและผลไม้อื่นเท่ากับ 10,667 ล้านดอลลาร์สหรัฐ โดยมีไซเดอร์ชนิดมีแก๊ส (sparkling ciders) ครองส่วนแบ่งตลาดสูงที่สุดถึงร้อยละ 30 [9] การผลิตเครื่องดื่มอัดแก๊สในระดับอุตสาหกรรมนิยมใช้วิธี force carbonation โดยการอัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ลงในเครื่องดื่มโดยตรง ซึ่งต้องใช้เครื่องจักรที่มีราคาสูงและใช้เงินลงทุนมาก [10] ดังนั้นผู้ผลิตรายย่อยจึงเข้าสู่ตลาดได้ยาก การคิดค้นกระบวนการอัดแก๊สลงในเครื่องดื่มจึงมีประโยชน์ต่อผู้ผลิตรายย่อย ยีสต์ที่เกี่ยวข้องในการผลิตไซเดอร์มีทั้งในกลุ่ม *Saccharomyces* และ non-*Saccharomyces* ในกระบวนการหมักไซเดอร์ ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และสารเมตาบอไลต์อื่น ๆ ซึ่งยีสต์กลุ่ม *Saccharomyces* ได้แก่ สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* หรือ *S. bayanus* มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมัก เนื่องจากมีอัตราการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์สูงและทนต่อแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นระหว่างการหมักได้ดี ปัจจุบันมีการใช้ยีสต์ non-*Saccharomyces* เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีรายงานว่าช่วยเพิ่มปริมาณกลีเซอรอล

(glycerol) ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความหนืดมากขึ้น ช่วยให้เกิดฟองแก๊สที่คงตัวมากขึ้น และให้กลิ่นรสที่ดีต่อผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยีสต์ *non-Saccharomyces* ยังผลิตเอทานอลในระดับต่ำ [11-12] จึงเหมาะกับผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มที่ไม่ต้องการปริมาณแอลกอฮอล์สูง แต่สามารถผลิตแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ได้ หากสามารถพัฒนากระบวนการหมักให้เหมาะสมในการผลิตไซเดอร์จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อผู้ผลิตรายย่อยที่ต้องการผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มที่มีแก๊สโดยไม่ต้องลงทุนสูงด้านเครื่องจักร สายพันธุ์ของยีสต์ที่ใช้ในการหมักเป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อคุณภาพของไซเดอร์ ยีสต์สายพันธุ์ *Torulaspora delbrueckii* และ *Metschnikowia pulcherrima* จัดเป็นยีสต์ *non-Saccharomyces* ที่นิยมใช้ร่วมกับยีสต์ *S. cerevisiae* ในการผลิตไวน์ ไวน์ผลไม้ และเบียร์ เพื่อเพิ่มความหลากหลายทางด้านคุณภาพประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ [13-19] นอกจากนี้ยังเป็นสายพันธุ์ที่มีจำหน่ายทางการค้าในลักษณะกล้าเชื้อบริสุทธิ์ ซึ่งการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ในการหมัก ทำให้ผู้ผลิตสามารถควบคุมคุณภาพของไซเดอร์ให้มีความสม่ำเสมอและขยายกำลังการผลิตให้เพิ่มมากขึ้นได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสายพันธุ์ของยีสต์ *non-Saccharomyces* ที่ใช้ในการผลิตไซเดอร์ชนิดมีแก๊สจากลิ้นจี่ผลร่วง โดยเปรียบเทียบกิจกรรมการหมักของยีสต์ 2 สายพันธุ์ (*T. delbrueckii* และ *M. pulcherrima*) และคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซเดอร์ลิ้นจี่

วัสดุและวิธีการ

วัสดุ

ยีสต์สำเร็จรูปทางการค้า 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Torulaspora delbrueckii* Zymaflore® Alpha (Lafford, Bordeaux Cedex, France) และ *Metschnikowia pulcherrima* Flavia® MP346 (Lallemand, Fredericia, Denmark) สารอาหารสำหรับยีสต์: Vitamon® Combi (Erbslöh, Geisenheim, Germany) กรดซิตริก (food-grade) (Union Science Co., Ltd., Chiang Mai, Thailand) น้ำตาลทรายขาว (Mitr phol sugar corp., Ltd. Suphanburi, Thailand) และลิ้นจี่ผลร่วงพันธุ์ฮงฮวย (*L. chinensis* Sonn. var. Hong Huay) จากแหล่งปลูกในกลุ่มอนุรักษ์ผลิตลิ้นจี่คุณภาพห้วยปากกล้วยอำเภอมะเข จังหวัดพะเยา

การเตรียมเนื้อลิ้นจี่

คัดลิ้นจี่ผลร่วงที่เน่าเสียออก นำมาล้างด้วยน้ำประปาให้สะอาด ปอกเปลือก และแยกเนื้อออกจากเมล็ด บรรจุเนื้อลิ้นจี่หนัก 2 กิโลกรัม ลงในถุงพลาสติก (polyethylene) เก็บรักษาในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้ในกระบวนการผลิตไซเดอร์

กระบวนการผลิตไซเดอร์ลิ้นจี่ชนิดมีแก๊ส

1. การเตรียมน้ำลิ้นจี่และน้ำหมัก

เตรียมน้ำลิ้นจี่ (lychee juice) โดยนำเนื้อลิ้นจี่แช่แข็งมาทำให้ละลายในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 คืน บั่นเนื้อลิ้นจี่ให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น (HR2118, Philips Electronic (Thailand) Ltd., Bangkok, Thailand) โดยใช้ความเร็วปานกลาง นาน 2 นาที กรองเอากากออกด้วยผ้าขาวบาง ตรวจวัดคุณภาพทางเคมีของน้ำลิ้นจี่ ได้แก่ ความเป็นกรดต่าง (pH) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solids; TSS) และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก [Total acidity (as citric acid); TA]

จากนั้นเตรียมน้ำหมัก (must) โดยปรับ TSS ในน้ำลิ้นจี่ให้ได้ 16 องศาบริกซ์ (°Brix) ด้วยน้ำตาลทรายขาว และปรับ pH ให้ได้ 4.0 ด้วยกรดซิตริก (ร้อยละ 70 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) นำน้ำลิ้นจี่ที่ผ่านการปรับ TSS และ pH ไปลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทั้งไว้ให้เย็น จากนั้นเติมสารอาหารสำหรับยีสต์ Vitamon® Combi ปริมาณ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อให้มีสภาวะที่ดีสำหรับการเจริญเติบโตของยีสต์ ตรวจวัดคุณภาพทางเคมีของน้ำหมัก ได้แก่ pH TSS และ TA ซึ่งผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของน้ำลิ้นจี่และน้ำหมักดังแสดงใน Table 1

Table 1 Chemical composition of lychee juice and must

Sample	pH	TSS (°Brix)	TA (g/L)
Lychee juice	4.4 ± 0.0	15.3 ± 0.7	7.5 ± 0.2
Must	4.0 ± 0.0	16.1 ± 0.6	14.6 ± 0.3

Each value shows the mean ± standard deviation from triplicate.

2. การเตรียมหัวเชื้อยีสต์และการหมักไซเดอร์ลิ้นจี่ชนิดมีแก๊ส

เตรียมหัวเชื้อยีสต์แต่ละสายพันธุ์ (*T. delbrueckii* และ *M. pulcherrima*) โดยดัดแปลงวิธีการของ Dutraive และคณะ [20] บรรจุน้ำหมักที่เตรียมไว้ในข้อ 3.1 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้วรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วเติมผงยีสต์ให้มีปริมาณเริ่มต้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงไปในขวด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จะได้จำนวนเซลล์ยีสต์เริ่มต้น 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

การหมักไซเดอร์ลิ้นจี่ชนิดมีแก๊ส ทำการทดลอง 3 ขั้ว ในขวดแก้วสีชา ขนาด 330 มิลลิลิตร ที่ผ่านการลวกฆ่าเชื้อแล้ว โดยกำหนดสิ่งทดลองเป็นเชื้อยีสต์ non-*Saccharomyces* 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *T. delbrueckii* (TD) และ *M. pulcherrima* (MP) การหมักเริ่มจากเติมน้ำหมักปริมาตร 320 มิลลิลิตร จากนั้นถ่ายหัวเชื้อยีสต์ TD หรือ MP ที่เตรียมไว้ ปริมาตร 3.5 มิลลิลิตรต่อขวด เพื่อให้มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นของยีสต์ในน้ำหมักเท่ากับ 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปิดขวดด้วยฝาจีบ หมักที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 3 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

ตรวจสอบกิจกรรมการหมักโดยการติดตามการเปลี่ยนแปลงค่า TSS ปริมาณแอลกอฮอล์ และความดันภายในขวด ทุก 24 ชั่วโมง จากนั้นหยุดการหมักด้วยการพาสเจอร์ไรซ์ไซเดอร์ลิ้นจี่ชนิดมีแก๊ส ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เพื่อทำลายเชื้อยีสต์ ทั้งไว้ให้เย็น ตรวจสอบสมบัติทางเคมีกายภาพของไซเดอร์ลิ้นจี่ชนิดมีแก๊ส จากนั้นเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียส เพื่อรอการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซเดอร์ลิ้นจี่ชนิดมีแก๊ส

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพของไซเดอร์ลิ้นจี่ชนิดมีแก๊ส

วัดค่า pH ด้วยเครื่อง digital pH meter (SG2, Mettler-Toledo GmbH, Schwerzenbach, Switzerland) ค่า TSS ด้วยเครื่อง hand refractometer (Atago Master-50H, Atago Co. Ltd, Tokyo, Japan) ปริมาณแอลกอฮอล์ ด้วยเครื่อง ebulliometer (Dujardin-saloon, Paris, France) ความดันภายในขวด ด้วยเครื่อง pressure gauge แบบแห้ง (Sumo 50 มิลลิเมตร x 7 บาร์, Siam Global Group, Bangkok, Thailand) และหาปริมาณ TA ด้วยวิธีการไทเทรต [21]

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซเดอร์ลิ้นจี่ชนิดมีแก๊ส

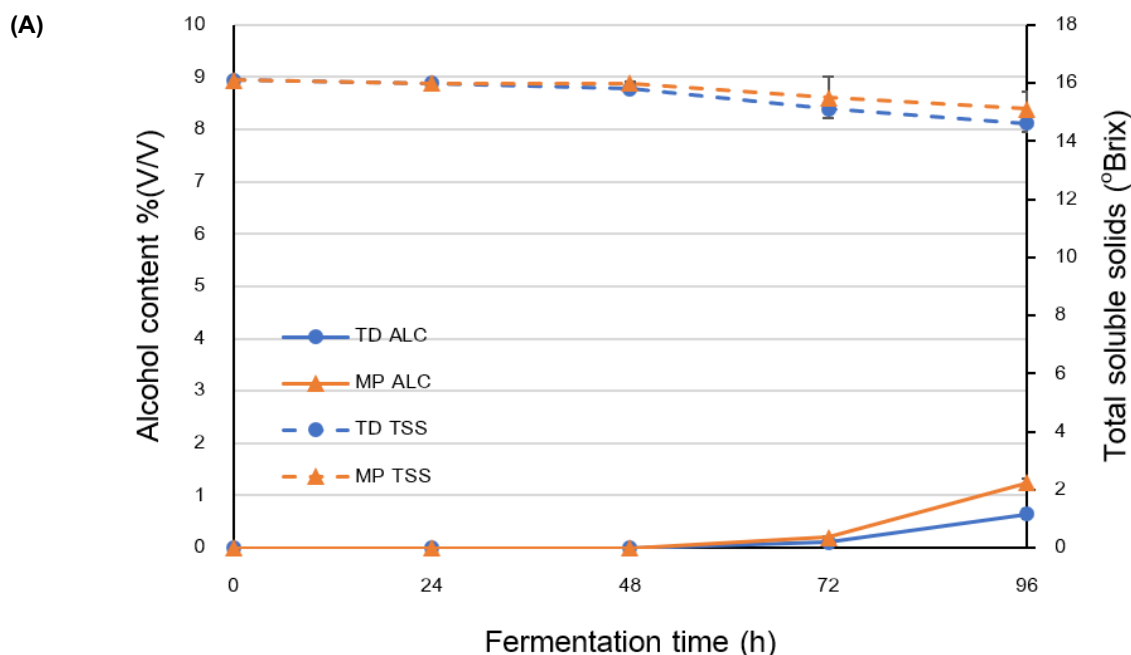
เทตัวอย่างไซเดอร์ลิ้นจี่ที่มีอุณหภูมิ 10–12 องศาเซลเซียส ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ใส่ในแก้วใสที่มีฝาปิด ให้รหัสตัวอย่างด้วยวิธีการสุ่มตัวเลข 3 หลัก และเรียงลำดับการเสิร์ฟตัวอย่างแบบสุ่ม ประเมินในช่วงเวลา 10.00–12.00 น. ภายในห้องปรับอากาศ ที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงสีขาว ใช้ผู้ทดสอบชิมกึ่งฝึกฝนที่มีความคุ้นเคยกับไซเดอร์หรือไวน์ จำนวน 30 คน ทดสอบเชิงพรรณนาด้วยวิธีการให้คะแนน (quality scoring test) โดยมีคุณลักษณะที่ทำการทดสอบ ได้แก่ กลิ่นผลไม้ (fruity aroma) กลิ่นดอกไม้ (floral) กลิ่นผลไม้เขตร้อน (tropical fruit aroma) กลิ่นที่มีความซับซ้อน (complexity) และกลิ่นคล้ายน้ำส้มสายชู (volatile acidity) ให้คะแนน 1 = ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด 9 = ความเข้มข้นมากที่สุด และทดสอบการยอมรับในด้านคุณลักษณะต่าง ๆ โดยให้คะแนนความชอบ (9-point hedonic scale) ในด้านสี (color) กลิ่น (aroma) กลิ่นรส (flavor) รสชาติ (taste) และความชอบโดยรวม (overall liking) ให้คะแนน 1 = ไม่ชอบมากที่สุด 5 = เฉย ๆ และ 9 = ชอบมากที่สุด [22] โดยงานวิจัยนี้ได้รับอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยพะเยา เลขที่โครงการวิจัย HREC-UP-HSST 1.3/062/66

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ยกเว้นการทดสอบทางประสาทสัมผัส ใช้การวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design, RCBD) นำข้อมูลที่ได้ วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี independent sample T-test ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 28 (IBM Corp., Armonk, NY, USA)

ผลการศึกษา

จาก Figure 1A พบว่า TSS ในไซเดอร์ลินจี่ที่หมักด้วยยีสต์ TD เริ่มลดลงในชั่วโมงที่ 48 ในขณะที่ไซเดอร์ลินจี่ที่หมักด้วยยีสต์ MP เริ่มลดลงในชั่วโมงที่ 72 จะเห็นได้ว่ายีสต์ TD เริ่มมีกิจกรรมการหมักก่อนยีสต์ MP แต่อย่างไรก็ตามยีสต์ MP มีอัตราการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์ (Figure 1A) และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (Figure 1B) ได้มากกว่ายีสต์ TD โดยในชั่วโมงที่ 72 ไซเดอร์ลินจี่ที่หมักด้วยยีสต์ MP และยีสต์ TD มีปริมาณแอลกอฮอล์ เท่ากับร้อยละ 0.2 และ 0.1 โดยปริมาตร มีความดันในขวด เท่ากับ 19.3 และ 17.7 ปอนด์ต่อตารางนิ้วตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ 96 ชั่วโมง ไซเดอร์ลินจี่ที่หมักด้วยยีสต์ MP และยีสต์ TD มีปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับร้อยละ 1.3 และ 0.7 โดยปริมาตร ตามลำดับ และมีความดันในขวด เท่ากับ 53.7 และ 45.3 ปอนด์ต่อตารางนิ้วตามลำดับ



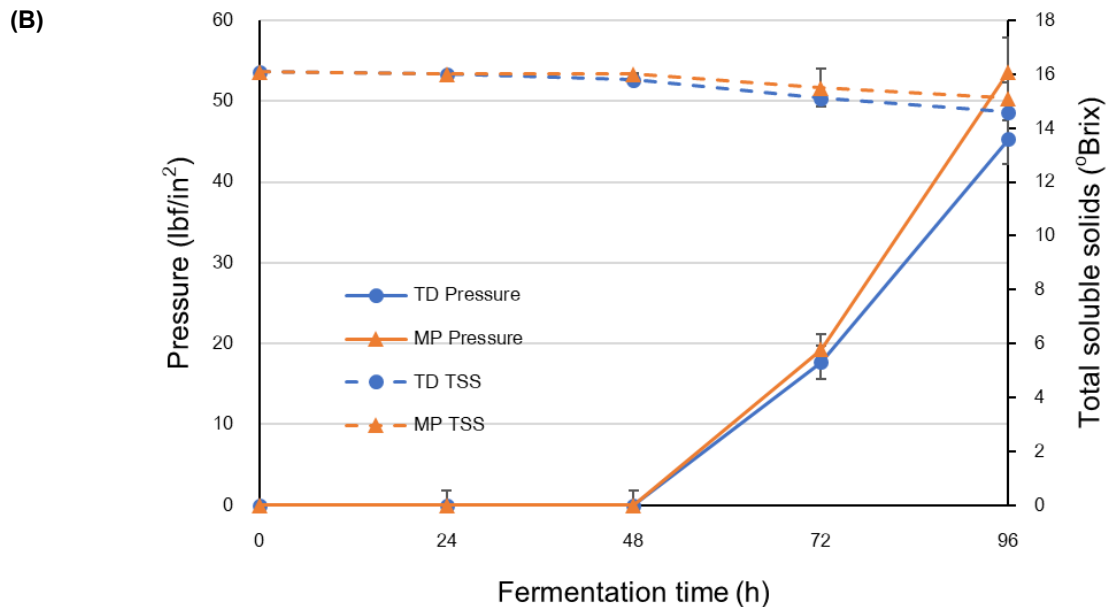


Figure 1 Fermentation activities of must fermented with different yeast strains in close system for 96 h; (a) the change of alcohol content and total soluble solids (b) the change of pressure inside bottle and total soluble solids. Each value shows the mean $\pm$ standard deviation from triplicate.

จากการศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของไซเดอร์ลินี่ชนิดมีแก๊ส (Table 2) พบว่า ค่า pH TSS และ TA ที่ได้จากหมักด้วยยีสต์ทั้ง 2 สายพันธุ์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \geq 0.05$) โดยไซเดอร์ลินี่มีค่า pH เท่ากับ 3.9 TSS อยู่ในช่วง 14.6-15.1 องศาบริกซ์ และ TA อยู่ในช่วง 14.2-14.5 กรัมต่อลิตร ส่วนปริมาณแอลกอฮอล์และความดันภายในขวดของไซเดอร์ลินี่ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยไซเดอร์ลินี่ที่หมักด้วยยีสต์ MP มีปริมาณแอลกอฮอล์และความดันภายในขวดสูงกว่า

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไซเดอร์ลินี่ชนิดมีแก๊ส ด้วยวิธีการให้คะแนนความเข้ม (Table 3) พบว่าไซเดอร์ลินี่ที่ผลิตด้วยยีสต์ TD มีความเข้มของคุณลักษณะในด้าน tropical fruit aroma (5.7) มากกว่าไซเดอร์ลินี่ที่ผลิตด้วยยีสต์ MP (4.3) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนคุณลักษณะอื่น ๆ ได้แก่ fruity aroma, floral, complexity และ volatile acidity มีคะแนนไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีคะแนนอยู่ในช่วง 4.7-5.6, 3.2, 4.4-5.1 และ 2.2 ตามลำดับ จากการทดสอบการยอมรับด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ พบว่าไซเดอร์ลินี่ที่ผลิตด้วยยีสต์ TD ได้รับคะแนนความชอบในด้านกลิ่น (7.5) กลิ่นรส (7.7) และความชอบโดยรวม (7.8) มากกว่าไซเดอร์ลินี่ที่ผลิตด้วยยีสต์ MP อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งอยู่ในระดับชอบปานกลาง (Table 4)

Table 2 Physico-chemical properties of pasteurized sparkling lychee cider fermented with different yeast strains.

Physico-chemical properties	Yeast strain	
	TD	MP
pH	3.9 ^a ± 0.0	3.9 ^a ± 0.0
TSS (°Brix)	14.6 ^a ± 0.7	15.1 ^a ± 0.2
Total acidity (as citric acid) (g/L)	14.2 ^a ± 0.1	14.5 ^a ± 0.3
Alcohol content %(v/v)	0.7 ^b ± 0.1	1.3 ^a ± 0.1
Pressure inside cider bottle (lbf/in ²)	45.3 ^b ± 3.0	53.7 ^a ± 2.1

Each value shows the mean ± standard deviation from triplicate.

Values displaying different letters (a-b) within the same row are significantly different ($p < 0.05$) according to the t-test.

Table 3 Quality scores of pasteurized sparkling lychee cider fermented with different yeast strains.

Attribute	Yeast strain	
	TD	MP
Fruity aroma	5.6 ^a ± 2.0	4.7 ^a ± 1.9
Floral	3.2 ^a ± 2.1	3.2 ^a ± 2.0
Tropical fruit aroma	5.7 ^a ± 1.9	4.3 ^b ± 2.0
Complexity	5.1 ^a ± 1.6	4.4 ^a ± 2.2
Volatile acidity	2.2 ^a ± 1.3	2.2 ^a ± 1.2

Each value shows the mean ± standard deviation from triplicate.

Values displaying different letters (a-b) within the same row are significantly different ($p < 0.05$) according to the t-test.

9-point intensity scale: 1-very light intense, 5-intense, 9-very intense

Table 4 Liking scores of pasteurized sparkling lychee cider fermented with different yeast strains.

Attribute	Yeast strain	
	TD	MP
Color	6.9 ^a ± 1.7	6.7 ^a ± 1.0
Aroma	7.5 ^a ± 1.3	5.5 ^b ± 1.7
Flavor	7.7 ^a ± 1.4	6.2 ^b ± 1.2
Taste	7.1 ^a ± 1.6	6.8 ^a ± 1.6
Overall liking	7.8 ^a ± 1.6	6.1 ^b ± 1.4

Each value shows the mean ± standard deviation from triplicate.

Values displaying different letters (a-b) within the same row are significantly different ($p < 0.05$) according to the t-test.

9-point hedonic scale: 1-strongly disliked, 5-moderately liked, 9-strongly liked

วิจารณ์

น้ำลิ้นจี่พันธุ์ฮวงฮวยมีค่า pH 4.4 (Table 1) เมื่อนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักทำให้ได้ไซเดอร์ที่มีค่า pH ก่อนข้างสูง Ribereau-Gayon และคณะ [23] และ The Australian Wine Research Institute [24] รายงานว่าไวน์ทั่วไปมีค่า pH อยู่ในช่วง 2.9-4.2 ซึ่งไวน์ที่มีค่า pH สูงจะเกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีและชีวเคมีอย่างรวดเร็ว เสี่ยงต่อการเจริญของแบคทีเรียที่ไม่ต้องการ และนำไปสู่การเสื่อมคุณภาพของไวน์ ดังนั้น การควบคุมค่า pH ของไวน์ให้อยู่ในระดับต่ำ (3.2-3.5) โดยต่ำกว่า 4.0 จะช่วยควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ ช่วยรักษากลิ่นรส ช่วยเสริมประสิทธิภาพของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์และป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันอีกด้วย แต่อย่างไรก็ตาม การปรับค่า pH ของน้ำลิ้นจี่ก่อนการหมักด้วยกรดซิตริกซึ่งมีรสเปรี้ยวรุนแรง (sharp) ให้มีค่าต่ำกว่า 4.0 ส่งผลให้ไซเดอร์ลิ้นจี่มีรสชาติเปรี้ยวเกินไป ดังนั้น ควรปรับค่า pH ให้ได้ 4.0 เพื่อช่วยรักษารสชาติของไซเดอร์ลิ้นจี่

จากกราฟการเปลี่ยนแปลงระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์และค่า TSS (Figure 1A) พบว่ายีสต์ *M. pulcherrima* เริ่มต้นการหมักไซเดอร์ที่ช้ากว่ายีสต์ *T. delbrueckii* แต่เมื่อสิ้นสุดการหมักที่เวลา 96 ชั่วโมง พบว่าไซเดอร์ลิ้นจี่ที่หมักโดยยีสต์ *M. pulcherrima* มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงกว่า ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Einfalt [18] ที่หมักเบียร์ด้วย (barley-sorghum craft beer) ด้วยยีสต์ *M. pulcherrima* และยีสต์ *T. delbrueckii* ซึ่งพบว่าในชั่วโมงที่ 96 ของการหมักยีสต์ *M. pulcherrima* สามารถผลิตเอทานอลได้ 22 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ยีสต์ *T. delbrueckii* ผลิตได้เพียง 10 กรัมต่อลิตร แต่อย่างไรก็ตาม มีรายงานที่ผลการทดลองต่างออกไป กล่าวคือ Sadineni และคณะ [17] พบว่าไวน์มะม่วงที่หมักเป็นเวลา 20 วัน โดยยีสต์ *M. pulcherrima* และยีสต์ *T. delbrueckii* ผลิตแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 3.8 และ 6.9-7.2 โดยปริมาตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ายีสต์ทั้ง 2 สายพันธุ์ มีความทนต่อเอทานอลและผลิตเอทานอลได้แตกต่างกัน โดยยีสต์ *M. pulcherrima* ผลิตเอทานอลต่ำกว่า โดยมีค่าประมาณร้อยละ 4-7 โดยปริมาตร [17, 25] ส่วนยีสต์ *T. delbrueckii* ผลิตแอลกอฮอล์ได้ประมาณร้อยละ 6-9 โดยปริมาตร [17, 26] ในขณะที่ Karabegović และคณะ [15] รายงานว่าการหมักไวน์แดงจากองุ่นพันธุ์ Prokupac นาน 8 วัน ด้วยยีสต์ *M. pulcherrima* และยีสต์ *T. delbrueckii* พบว่าสามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงใกล้เคียงกัน คือ ร้อยละ 11.9 และ 12.6 โดยปริมาตร ตามลำดับ จากความแตกต่างของปริมาณแอลกอฮอล์ที่ยีสต์ทั้ง 2 สายพันธุ์ผลิตได้อาจเป็นผลมาจากองค์ประกอบของน้ำหมัก ปริมาณน้ำตาลและไนโตรเจนเริ่มต้น สภาวะของการหมัก และสายพันธุ์ของ non-*Saccharomyces* ยีสต์ อย่างไรก็ตาม ไซเดอร์ลิ้นจี่ที่หมักด้วยยีสต์ *T. delbrueckii* มีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 0.7 โดยปริมาตร และความดันภายในขวดจากแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 45.3 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ซึ่งมีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพที่สอดคล้องกับรายงานของ Joshi และ Attri [4] ที่ระบุว่า ไซเดอร์หวานชนิดมีแก๊ส (sparkling sweet cider) ที่ผลิตจากแอปเปิ้ลมีปริมาณแอลกอฮอล์ไม่เกินร้อยละ 1 โดยปริมาตร และยังคงมีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากการหมักหลงเหลืออยู่

จากกราฟการเปลี่ยนแปลงระหว่างความดันภายในขวดและค่า TSS (Figure 1B) จะเห็นได้ว่าค่า TSS ของไซเดอร์ลิ้นจี่ที่หมักด้วยยีสต์ *T. delbrueckii* เริ่มมีการลดลงตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 โดยมีการลดลงต่ำกว่าไซเดอร์ลิ้นจี่ที่หมักด้วยยีสต์ *M. pulcherrima* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Karabegović และคณะ [15] ที่ระบุว่า *T. delbrueckii* เริ่มกิจกรรมการหมักไวน์แดงจากองุ่นพันธุ์ Prokupac ในชั่วโมงที่ 36 ซึ่งเร็วกว่า *M. pulcherrima* ที่มีการหมักในช่วง 72 ชั่วโมงแรกนอຍมาก เนื่องจากปริมาณน้ำตาลมีการลดลงน้อยมาก นอกจากนี้ Jolly และคณะ [27] ได้จำแนก non-*Saccharomyces* ยีสต์ในการผลิตไวน์ โดยยีสต์ *M. pulcherrima* อยู่ในกลุ่มที่ต้องการออกซิเจนสูงในการเจริญ (largely aerobic) ส่วนยีสต์ *T. delbrueckii* อยู่ในกลุ่ม fermentative metabolism ซึ่งเจริญได้ค่อนข้างเร็ว อย่างไรก็ตามอัตราการเจริญของยีสต์ทั้ง 2 สายพันธุ์ ช้ากว่ายีสต์ *S. cerevisiae* ซึ่งยีสต์ *S. cerevisiae* สามารถเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นเอทานอล แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และสารเมตาบอไลต์อื่น ๆ [16] เช่นเดียวกับ non-*Saccharomyces* ยีสต์ *M. pulcherrima* และยีสต์ *T. delbrueckii* ที่สามารถผลิตเอทานอลได้ [28] การหมักไซเดอร์ในขวดปิดสนิททำให้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ไม่ถูกปล่อยสู่บรรยากาศ เมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นจึงส่งผลให้ความดันในขวดสูงขึ้น

(Figure 1B) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของความดันในขวดมีความสัมพันธ์กับการผลิตแอลกอฮอล์และการลดลงของค่า TSS โดยในชั่วโมงที่ 72 ของการหมักไซเดอร์ลินจีด้วยยีสต์ *M. pulcherrima* และยีสต์ *T. delbrueckii* พบว่ามีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 0.2 และ 0.1 โดยปริมาตร และมีความดันในขวด 19.30 และ 17.70 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ตามลำดับ ทั้งยีสต์ *M. pulcherrima* และยีสต์ *T. delbrueckii* มีอัตราการหมักที่สูงขึ้นในชั่วโมงที่ 96 โดยมีค่า TSS ลดลงเหลือ 15.1 และ 14.6 องศาบริกซ์ และมีปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มเป็นร้อยละ 1.3 และ 0.7 โดยปริมาตร ส่งผลให้ความดันในขวดเพิ่มสูงเป็น 53.7 และ 45.3 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ตามลำดับ (Table 1)

จากงานวิจัยไซเดอร์ลินจีที่ผลิตด้วยยีสต์ *T. delbrueckii* มีคะแนนความเข้มข้นด้าน tropical fruit aroma มากกว่าไซเดอร์ลินจีที่ผลิตด้วยยีสต์ *M. pulcherrima* และมีคะแนนความชอบด้านกลิ่น กลิ่นรส และความชอบโดยรวมมากกว่า (Table 3 และ 4) อาจเนื่องมาจากยีสต์ *T. delbrueckii* ผลิตสารประกอบเอสเทอร์ ซึ่งเป็นสารกลุ่มที่ให้กลิ่น fruity และ floral ในระดับที่สูงและมีปริมาณที่เหมาะสมกว่ายีสต์ *M. pulcherrima* [15] อีกทั้งยีสต์ *T. delbrueckii* ผลิตกรดอะซิติกซึ่งให้กลิ่นของน้ำส้มสายชู ประมาณ 0.1 กรัมต่อลิตร ในปริมาณที่น้อยกว่า *M. pulcherrima* ซึ่งผลิตได้ประมาณ 0.3-0.4 กรัมต่อลิตร [25, 29]

การผลิตไซเดอร์ลินจีชนิดมีแก๊ส สามารถใช้ยีสต์ non-*Saccharomyces* ในกระบวนการหมักได้ทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยไซเดอร์ลินจีที่ผลิตด้วยยีสต์ *T. delbrueckii* มีคะแนนด้าน tropical fruit aroma และคะแนนความชอบด้านกลิ่น กลิ่นรส และความชอบโดยรวม สูงกว่าไซเดอร์ลินจีที่ผลิตด้วยยีสต์ *M. pulcherrima* ดังนั้น ยีสต์ *T. delbrueckii* จึงเป็นยีสต์ที่เหมาะสมกับการผลิตไซเดอร์ลินจีชนิดมีแก๊ส

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 มหาวิทยาลัยพะเยา เลขที่สัญญา FF64-RIM007 ทางคณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะกรรมการและทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยาที่ให้การอนุเคราะห์ด้านการใช้เครื่องมือ และสนับสนุนการทำวิจัยตลอดมา

เอกสารอ้างอิง

- [1] Office of Agricultural Economics. [internet]. Accessed 2022 March 13. Available from: <http://mis-app.oae.go.th/product/%E0%B8%A5%E0%B8%B4%E0%B9%89%E0%B8%99%E0%B8%88%E0%B8%B5%E0%B9%88>.
- [2] Bangkokbiznews [internet]. Accessed 2022 May 5. Available from: <https://www.bangkokbiznews.com/news/1002717>.
- [3] Panee Sirisa-ard [internet]. Accessed 2021 December 24. Available from: <https://www.pharmacy.cmu.ac.th/web2553/n56.php>.
- [4] Joshi VK, Attri BL. Chapter 7 Specific features of table wine production. In: Kosseva M, Joshi VK, Panesar PS. Science and technology of fruit wine production. 1sted, 318-319. London, UK: Elsevier, Inc.; 2017.
- [5] Jarvis B. Cider (Cyder; Hard Cider). In: Batt CA, Tortorello ML. Encyclopedia of food sciences and nutrition, vol 1. 2nd ed, 437–443. Ross-on-Wye, UK: Elsevier, Inc.; 2014.
- [6] Mahannopkul W, Inprasit K. Banana cider production. Bull Dept Sci Ser. 2012;60(188):8-9.
- [7] Lobo AP, García DY, MangasSánchez J, Madrera RR, SuárezValles B. Phenolic and antioxidant composition of cider. J Food Compos Anal. 2009;22(7–8):644-648.

- [8] Zuriarrain A, Zuriarrain J, Puertas IA, Dueñas TM, Ostra M, Berregi I. Polyphenolic profile in cider and antioxidant power. *J Sci Food Agric*. 2015;95(14):2931-2943.
- [9] Allied Market Research [internet]. Accessed 2019 October 25. Available from: <https://www.alliedmarketresearch.com/cider-market>.
- [10] Yongpisanphob W [internet]. Accessed 2019 May 3. Available from: <https://www.krungsri.com/th/research/industry/industry-outlook/Food-Beverage/Beverage/IO/io-beverage-20-th>.
- [11] Alicia G, Teun B, Zoran G, Michael K. Evaluation of non-*Saccharomyces* yeasts in the fermentation of wine, beer and cider for the development of new beverages. *J Inst Brew*. 2018;124:389–402.
- [12] Sgouros G, Chalvanti I, Mallouchos A, Paraskevopoulos Y, Banilas G, Nisiotou A. Biodiversity and enological potential of non-*Saccharomyces* yeasts from Nemean vineyards. *Fermentation*. 2018;4(32):1-13.
- [13] Kręgiel D, Pawlikowska E, Antolak H, Dziekońska-Kubczak U, Pielech-Przybylska K. Exploring use of the *Metschnikowia pulcherrima* clade to improve properties of fruit wines. *Fermentation*. 2022;8(247):1-16.
- [14] Zhang B, Liu H, Xue J, Tang C, Duan C, Yan G. Use of *Torulaspora delbrueckii* and *Hanseniaspora vineae* co-fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* to improve aroma profiles and safety quality of Petit Manseng wines. *LWT*. 2022;161(113360):1-8.
- [15] Karabegović I, Malićanin M, Danilovic B, Stanojevic J, Stojanovic SS, Nikolic N, Lazic M. Potential of non-*Saccharomyces* yeast for improving the aroma and sensory profile of Prokupac red wine. *IVES*. 2021;2:181-195.
- [16] González-R. E, Pascual O, Kontoudakis N, Esteruelas M, Esteve-Z B, Mas A, Canals JM, Zamora F. Oenological consequences of sequential inoculation with non-*Saccharomyces* yeasts (*Torulaspora delbrueckii* or *Metschnikowia pulcherrima*) and *Saccharomyces cerevisiae* in base wine for sparkling wine production. *Eur Food Res Technol*. 2015;240:999–1012.
- [17] Sadineni V, Kondapalli N, Obulam VSR. Effect of co-fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspora delbrueckii* or *Metschnikowia pulcherrima* on the aroma and sensory properties of mango wine. *Ann Microbiol*. 2012;62:1353–1360.
- [18] Einfalt D. Barley-sorghum craft beer production with *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspora delbrueckii* and *Metschnikowia pulcherrima* yeast strains. *Eur Food Res Technol*. 2021;247:385–393.
- [19] Bely M, Stoeckle P, Masneuf-Pomarède I, Dubourdiou D. Impact of mixed *Torulaspora delbrueckii*–*Saccharomyces cerevisiae* culture on high-sugar fermentation. *Int J Food Microbiol*. 2008;122:312–320.
- [20] Dutraive O, Benito S, Fritsch S, Beisert B, Patz C, Rauhut D. Effect of Sequential Inoculation with Non-*Saccharomyces* and *Saccharomyces* Yeasts on Riesling Wine Chemical Composition. *Fermentation*. 2019;5(79):1-16.
- [21] AOAC. Official methods of analysis. Association of official chemist. Washington; 1995.
- [22] Civille GV, Carr BT. Sensory evaluation techniques. 5th ed, 630. Boca Raton: CRC Press; 2015.

- [23] Ribereau-Gayon P, Glories Y, Maujean A, Dubourdieu D. Chapter 1 Organic Acids in Wine. In: andbook of enology volume 2; The chemistry of wine stabilization and treatments. 2nd ed, 451. West Sussex, UK: John Wiley & Sons Ltd.; 2006.
- [24] The Australian Wine Research Institute [internet]. Accessed 2021 October 10. Available from: https://www.awri.com.au/industry_support/winemaking_resources/frequently_asked_questions/acidity_and_ph/
- [25] Morata A, Loira I, Escott C, Fresno JM, Bañuelos MA, Lepe JAS. Applications of *Metschnikowia pulcherrima* in wine biotechnology. Fermentation. 2019;5(63):1-9.
- [26] Benito S. The impact of *Torulaspora delbrueckii* yeast in winemaking. Appl Microbiol Biotechnol. 2018; 102:3081–3094.
- [27] Jolly NP, Augustyn OPH, Pretorius IS. The role and use of non-*Saccharomyces* yeasts in wine Production. S Afr J Enol Vitic. 2006;27(1):15-38.
- [28] Feng CT, Du X, Wee J. Microbial and chemical analysis of non-*Saccharomyces* yeasts from Chambourcin hybrid grapes for potential use in winemaking, Fermentation. 2021;7(15):1-23.
- [29] Chen K, Escott C, Loira I, del Fresno JM, Morata A, Tesfaye W, Calderon F, Suárez-Lepe JA, Han S, Benito S. Use of non-*Saccharomyces* yeasts and oenological tannin in red winemaking: influence on colour, aroma and sensorial properties of young wines. Food Microbiol. 2018;69:51–63.
- [30] Chen D, Liu S-Q. Impact of simultaneous and sequential fermentation with *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae* on non-volatiles and volatiles of lychee wines. LWT-Food Sci Technol. 2016;65:53–61.
- [31] Panjai L, Ongthip K, Chomsri N. Complex fruit wine produced from dual culture fermentation of pineapple juice with *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae*. As J Food Ag-Ind. 2009; 2(02):135-139.